

10

===== EPODOC =====

- AB - A one-way microlitre pipette dispenses an accurately metered volume of fluid in which all or selected types of particle can be counted.
- A transparent plastic plate (1) has a depression (3) bounded by the edges (4) and a transparent cover (2) which together form a counting chamber on whose base is inscribed a guide (5).
 - The pipette introduces the fluid via the gap (6) in the edge (4) using inlet channels (7) and capillary attraction to the chamber. A matt area (8) provides a surface for written identification of the fluid sample.
 - USE/ADVANTAGE - Eg for urine, alcohol or blood esp. erythrocytes and leucocytes. Counting precision is independent of distribution of particles and chamber height/volume are not important since fluid volume controlled by accurately standardised pipette. Risk of infection is negligible due to one-way fluid travel. Is low-cost and time saving compared with customary glass alternative, is throw-away, no cleaning etc and samples do not require concentration process.
- PN - DE4209460 A 19930930
- AP - DE19924209460 19920324
- PR - DE19924209460 19920324
- PA - GARNJOST ACHIM DR MED (DE)
- IN - GARNJOST ACHIM DR MED (DE)
- EC - G02B21/34
- CT - DE2844008 B2 []; DE3333674 A1 []; US4447140 A [];
- US4299441 A []; US4022521 A []; EP0210071 A2 []
- CTNP - [] DE-Buch: R+mp, Chemielexikon, 9. Aufl., Bd. 1, Stuttgart, Thieme, 1989, S. 461;
- [] DE-Buch: Norbert HENNING: "Klinische Laboratoriumsdiagnostik", 3. Aufl., M'nchen, Urban & Schwarzenberg, 1966, S. 184-186, 199;
 - [] DIN 12847 Teil 1;
 - [] STUDENT: "On the Error of Counting with a Haemacytometer" in Biometrika 5 (1907) S. 351-360;
 - [] LANCASTER, H.O.: "Statistical Control in Haemacytology" in J.Hyg. 48 (1950) S. 402-417;
 - [] HYNES, M.: "The Distribution of Leucocytes on the Counting Chamber" in J.clin.Path. 1 (1947) S.25-29;
 - [] SANDERS, C., SKERRY, D.W.: "The distribution of blood cells on haemacytometer counting chambers with special reference to the amended British Standards Specification" 748 (1958)" in: J.clin. Path. 14 (1961) S. 298-304
- DT - *

===== WPI =====

- TI - Plastic chamber for microscopic particle concn. in medical fluids - using transparent plastic plate, and one-way microlitre pipette and capillary attraction to distribute metered fluid on counting grid
- AB - DE4209460 A one-way microlitre pipette dispenses an accurately metered volume of fluid in which all or selected types of particle can be counted.
- A transparent plastic plate (1) has a depression (3) bounded by the edges (4) and a transparent cover (2) which together form a counting chamber on whose base is inscribed a guide (5).
 - The pipette introduces the fluid via the gap (6) in the edge (4) using inlet channels (7) and capillary attraction to the chamber. A matt area (8) provides a surface for written identification of the fluid sample.
 - USE/ADVANTAGE - Eg for urine, alcohol or blood esp. erythrocytes and leucocytes. Counting precision is independent of distribution of particles and chamber height/volume are not important since fluid volume controlled by accurately standardised pipette. Risk of infection is negligible due to one-way fluid travel. Is low-cost and time saving compared with customary glass alternative, is throw-away, no cleaning etc and samples do not require concentration process.
 - (Dwg.1/4)
- PN - DE4209460 A1 19930930 DW199340 G01N15/06 006pp
- DE4209460 C2 19970814 DW199736 G01N15/06 004pp
- PR - DE19924209460 19920324
- PA - (GARN-I) GARNJOST A
- (SARS-N) SARSTEDT GERATE & VERBRAUCHSMATERIAL
- IN - GARNJOST A



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 **Offenlegungsschrift**
10 **DE 42 09 460 A 1**

51 Int. Cl. 5:
G 01 N 15/06
G 02 B 21/34

21 Aktenzeichen: P 42 09 460.7
22 Anmeldetag: 24. 3. 92
43 Offenlegungstag: 30. 9. 93

DE 42 09 460 A 1

71 Anmelder:
Garnjost, Achim, Dr.med., 5880 Lüdenscheid, DE

72 Erfinder:
gleich Anmelder

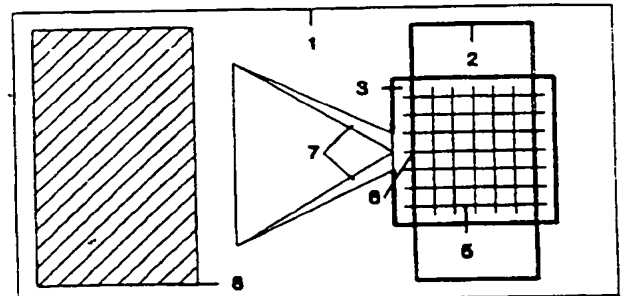
Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

54 Verfahren zur Bestimmung der Konzentration mikroskopischer Teilchen in Flüssigkeiten und Vorrichtungen zur Ausführung dieses Verfahrens

57 Die mikroskopische Bestimmung der Teilchenkonzentration von Körperflüssigkeiten wird mit geeichten Zellenzählkammern aus Glas oder mit Zellenzählkammern aus transparentem Kunststoff vorgenommen. Die Kammern aus Glas müssen gereinigt werden. Die Kammern aus Kunststoff erlauben bisher keine ausreichend präzise Volumenabgrenzung.

Bei dem neuen Verfahren erfolgt die Volumenabgrenzung mit einer Mikroliterpipette. Die neue Zählkammer aus transparentem Kunststoff dient nur der Teilchenzählung und zwar im gesamten abgegrenzten Volumen. Das neue Verfahren ist so präzise wie das Verfahren mit geeichten Zählkammern aus Glas, aber schneller, einfacher, kostengünstiger und mit geringerem Infektionsrisiko verbunden als die bisherigen mikroskopischen Verfahren. Die neue Zählkammer besteht aus: Grundplatte (1), Deckplatte (2), Kammerboden (3) mit Netzteilung (5), die direkt an der Stelle beginnt, an der das Volumen der zu untersuchenden Flüssigkeit aufgebracht wird (6), Pipettenspitzenführung (7) und Beschriftungsfeld (8).

Bestimmung der Zellenkonzentration von Körperflüssigkeiten - insbesondere von Urin, Liquor und Blut - im klinischen Laboratorium.



DE 42 09 460 A 1

Beschreibung

Angabe des technischen Gebiets

Verfahren und Vorrichtungen, die diesem Zweck dienen, werden im klinischen Laboratorium zur Bestimmung des Teilchengehalts von Körperflüssigkeiten — insbesondere von Urin, Liquor und Blut — verwendet. Die mikroskopischen Teilchen, deren Konzentration es zu bestimmen gilt, sind vor allem Erythrozyten und Leukozyten aber auch Zylinder, Bakterien und Kristalle.

Stand der Technik

Die Bestimmung der Teilchenkonzentration von Körperflüssigkeiten wird gegenwärtig entweder mit elektronischen Geräten oder visuell mit dem Mikroskop vorgenommen. Die hier zu beschreibende Erfindung ist eine Neuerung auf dem Gebiet der mikroskopischen Verfahren.

Zur mikroskopischen Zellenzählung werden in Deutschland geeichte Zellenzählkammern aus Glas nach DIN 12 847 Teil 1 und im Bereich der Harnuntersuchung neben den Zählkammern aus Glas auch nicht geeichte Einwegsysteme aus Kunststoff verwendet. Mit den Zellenzählkammern aus Glas wird in der Regel natürlicher — d. h. unbearbeiteter — Harn untersucht. Bei den Einwegsystemen aus Kunststoff wird der Harn zunächst durch einen Zentrifugations- oder Filtrationsvorgang konzentriert. In einem zweiten Verfahrensschritt erfolgt dann die Auszählung der Teilchen unter dem Mikroskop mit Hilfe von Zählkammern aus transparentem Kunststoff.

Beiden Verfahrensweisen ist gemeinsam, daß die Auszählung der zu untersuchenden Flüssigkeit unter dem Mikroskop mit Hilfe von Zählkammern aus Glas oder aus Kunststoff vorgenommen wird. Die Zählkammer dient dabei zur Abgrenzung der Flüssigkeitsmenge und zur Erleichterung der mikroskopischen Zellenzählung.

Zur Abgrenzung der Flüssigkeitsmenge ist der Maßraum der Zählkammern bestimmt. Zur Erleichterung der mikroskopischen Zellenzählung ist am Boden des Maßraumes eine Netzeinteilung angebracht.

Der Maßraum einer Zählkammer wird durch folgende Begrenzungen definiert: Obere Volumenbegrenzung des Maßraumes ist die Unterfläche der Deckplatte. Untere Volumenbegrenzung ist der Kammerboden. Seitliche Maßraumbegrenzung sind die gedachten Ebenen, die bei senkrechter Projektion der Netzeinteilung auf die Deckplatte gebildet werden. Der dadurch gebildete Maßraum kann über der gesamten Netzeinteilung oder über Teilen davon liegen. Der Boden des Maßraumes ist bei den bisherigen Zählkammern nur eine Teilfläche des gesamten Kammerbodens. Die Netzeinteilung ist in der Mitte des Kammerbodens angebracht und reicht an keiner Stelle bis an den Rand der Kammer.

Mängel der bisher bekannten Ausführungen

Mit den bisherigen Zählkammern werden die in der Kammer befindlichen Teilchen nicht vollständig ausgezählt. Entweder wird stichprobenartig ein Teil der durch die Netzeinteilung gebildeten Quadrate — also nur ein Teil des Maßraumes — ausgezählt, oder es wird der ganze Maßraum ausgezählt. Durch das Auszählen des ganzen Maßraumes werden aber ebenfalls nicht alle Teilchen erfaßt, da der Boden des Maßraumes nur eine Teilfläche

des gesamten Kammerbodens darstellt. Aufgrund der unvollständigen Auszählung hat die ungleichmäßige Verteilung der Teilchen auf dem Kammerboden einen Einfluß auf Präzision und Richtigkeit des Zählergebnisses. Die Ungleichmäßigverteilung wird durch zufällige Vorgänge (z. B.: (1) Student (1907), On the error of counting with a haemocytometer, Biometrika 5: 351—360; (2) Lancaster HO (1950), Statistical control in haematology, J Hyg 48: 402—417) und durch systematische Vorgänge (z. B.: (1) Hynes M (1947), The distribution of leucocytes on the counting chamber, J clin Path 1: 25—29; (2) Sanders C, Skerry DW (1958), The distribution of blood cells on haemocytometer counting chambers, J clin Path 14: 298—304) hervorgerufen.

Die Verwendung von Zählkammern aus Glas hat über diesen — allen konventionellen Kammerzählungen mit Kammern aus Glas oder Kunststoff gemeinsamen — Nachteil hinaus noch einige praktische Nachteile: Die Kammern müssen nach jeder Benutzung sorgfältig gereinigt und getrocknet werden. Die Kammern sind zerbrechlich. Das Deckglas muß in einer Weise auf die Seitenstege der Kammer aufgeschoben werden, daß zwischen Deckglas und Seitenstegen Newton'sche Streifen entstehen.

Zur Vermeidung der praktischen Nachteile der Zählkammern aus Glas bietet sich die Verwendung von Einwegzählkammern aus transparentem Kunststoff an. Mit den bisherigen Zählkammern aus Kunststoff ist jedoch nach dem Kenntnisstand des Verfassers eine ausreichend präzise Abgrenzung der Flüssigkeitsmenge nicht möglich. Die präzise Volumenabgrenzung mit massengefertigten Zählkammern aus Kunststoff stellt auf jeden Fall ein technisches Problem dar. Die Existenz dieses technischen Problems wird deutlich belegt durch die Vielzahl der Patente, mit denen konstante Kammerhöhe und Planparallelität von Kammerboden und Deckplatte erreicht werden sollen (z. B.: (1) Deutsches Patent 33 33 674 A1, G 02 B 21/34, Zusammenfassung; (2) United States Patent 4,022,521, G 02 B 21/34, Abstract; (3) United States Patent 4,447,140, G 02 B 21/34, Abstract; (4) United States Patent 4,299,441, G 02 B 21/34; Seite 1, Zeile 34—41; (5) European Patent Application publication number 0 210 071 A2, G 02 B 21/34, Zusammenfassung, Anspruch 1.: "a fixed distance determined by said depth control ridge is maintained between said examination chamber roof and floor surfaces").

Technisches Problem

Die hier zu beschreibende Erfindung soll die Bestimmung der Konzentration mikroskopischer Teilchen in Flüssigkeiten unabhängig machen erstens von der Verteilung der Teilchen auf dem Zählkammerboden und zweitens von der Genauigkeit und Richtigkeit des Maßraumes von Zählkammern aus Kunststoff.

Mittel zur Lösung des technischen Problems

Bei den bisherigen Verfahren dient die Zählkammer der Volumenabgrenzung und der Erleichterung der Auszählung. Bei dem neuen Verfahren dient sie nur noch der Erleichterung der Auszählung. Die Volumenabgrenzung wird mit Hilfe einer Mikroliterpipette vorgenommen. Damit wird das Problem der Volumenabgrenzung mit Zählkammern aus Kunststoff umgangen.

Das mit der Mikroliterpipette abgegrenzte Volumen wird mit Hilfe einer neuen Zählkammer aus transparentem Kunststoff vollständig ausgezählt. Durch die voll-

ständige Auszählung hat die Verteilung der Teilchen auf dem Kammerboden keinen Einfluß auf das Zählergebnis; wenn sämtliche Teilchen — oder sämtliche Teilchen einer Teilchenart — ausgezählt werden, dann ist es völlig unerheblich, ob z. B. in einigen Quadraten der Netzeinteilung sich weniger und in anderen Quadraten mehr Teilchen als im Durchschnitt befinden.

Ausführungsbeispiele

Damit das gesamte mit der Mikroliterpipette abgegrenzte Volumen mit der neuen Zählkammer ausgezählt werden kann, muß sie eine Voraussetzung erfüllen, die sie von den bisherigen Zählkammern unterscheidet: Die neue Zählkammer ist dadurch gekennzeichnet, daß ihr Maßraum nach Größe und Lage der auf dem Kammerboden angebrachten Netzeinteilung geeignet ist, das aus der Mikroliterpipette entlassene Volumen der zu untersuchenden Flüssigkeit vollständig aufzunehmen, d. h. dergestalt aufzunehmen, daß sich kein Teil der Flüssigkeit auf einem nicht mit Netzlinien bedeckten Teil des Kammerbodens befinden kann.

Eine Zählkammer, die diesen Zweck erfüllt, kann auf verschiedene Weise ausgeführt werden:

1. Zählkammer nach Patentanspruch 3, (a):

Fig. 1 zeigt eine Zählkammer aus transparentem Kunststoff, die aus einer Grundplatte (1) und einer fest auf der Grundplatte montierten Deckplatte (2) besteht. In die Grundplatte eingelassen ist eine Fläche (3), die in der Figur durch einen breiten Rand (4) gekennzeichnet ist. Die Fläche (3) ist der Kammerboden. Der Abstand zwischen dem Kammerboden und der Unterfläche der Deckplatte hängt von der Art der Untersuchungsflüssigkeit und dem Untersuchungszweck ab. Für die Harnuntersuchung kann dieser Abstand z. B. 0,2 mm betragen. Auf dem Kammerboden ist eine Netzeinteilung (5) dergestalt angebracht, daß sie unmittelbar an der Stelle beginnt, an der die Untersuchungsflüssigkeit mit der Mikroliterpipette aufgebracht und durch Kapillarkräfte in die Kammer gezogen wird (6). Ebenfalls in die Grundplatte eingelassen ist eine Pipettenführung (7), die das Entlassen der Flüssigkeit an der dafür vorgesehenen Stelle (6) erleichtern soll. Damit die Flüssigkeit in die Kammer gezogen werden kann, ist der Rand (4) an der Stelle (6) unterbrochen. Für Beschriftungszwecke ist ein Teil der Grundplatte mattiert (8). Die Maße der Grundplatte betragen ca. 16 mm in der Breite, ca. 30 mm in der Länge und ca. 2 mm in der Höhe.

2. Zählkammer nach Patentanspruch 4, (a):

Fig. Nr. 2 zeigt eine Zählkammer, die sich von der Kammer in Fig. Nr. 1 dadurch unterscheidet, daß erstens eine Pipettenführung fehlt und zweitens die Deckplatte (2) anders gestaltet ist. Die Deckplatte ist nur an einer Seite auf der Grundplatte (1) befestigt und mit einem Scharnier bzw. einem Falz (9) versehen. Der Falz erlaubt das Umklappen der Deckplatte, nachdem mit einer Mikroliterpipette die abgegrenzte Flüssigkeitsmenge in der Mitte der Netzeinteilung (5) auf den Kammerboden (3) entlassen wurde. Der Rand (4) des Kammerbodens muß bei dieser Kammer nicht unterbrochen sein.

3. Zählkammer nach Patentanspruch 4, (b):

Fig. Nr. 3 zeigt eine Zählkammer, die sich von der Kammer in Figur Nr. 2 nur in der Gestaltung der Deckplatte (2) unterscheidet. Die Deckplatte ist vor

dem Aufbringen der Untersuchungsflüssigkeit nicht mit der Grundplatte verbunden. Sie wird erst danach auf der Grundplatte befestigt. Die Befestigung kann z. B. durch Stecken, Klemmen, Kleben oder ein anderes geeignetes Verfahren erfolgen.

4. Halterung nach Patentanspruch 6:

Die in den Fig. Nr. 1, 2 und 3 beschriebenen Zählkammern werden nicht direkt in die Objektträgerhalterung eines Mikroskops eingesetzt. Sie werden in die Halterung eingesetzt, die in Fig. Nr. 4 abgebildet ist. Diese Halterung kann ihrerseits in die Objektträgerhalterung eines Mikroskops eingesetzt werden. (1) ist die Grundplatte der Halterung. (2) ist eine in die Grundplatte eingelassene rechteckige Fläche, deren Außenmaße geringfügig größer sind als die Außenmaße der neuen Zählkammern. (3) ist eine Öffnung in Fläche (2), durch die der Kammerboden der in die Halterung eingesetzten neuen Zählkammern von unten beleuchtet werden kann. Die Außenmaße der Halterung entsprechen den Außenmaßen gängiger Objektträger.

Vorteile der Erfindung

— Das Zählergebnis ist von der Verteilung der Teilchen auf dem Kammerboden unabhängig.

— Das Zählergebnis wird nicht durch Schwankungen der Kammerhöhe beeinträchtigt. Dadurch werden die Herstellungskosten für die Zählkammern gesenkt.

— Das Verfahren ist eichfähig, wenn eichfähige Mikroliterpipetten benutzt werden.

— Durch das neue Verfahren wird — bei Verwendung von Mikroliterpipetten mit Einwegpipettenspitzen — der Kontakt mit infektiös Untersuchungsflüssigkeit weitestgehend ausgeschlossen, da die Zählkammern ebenfalls Einwegartikel sind.

— Gegenüber der Untersuchung mit Zählkammern aus Glas wird ohne Einbuße an Präzision erheblich Zeit gespart, da die Säuberung und Trocknung der Kammer sowie das Aufschieben des Deckglases entfallen.

— Bei der Harnuntersuchung wird gegenüber den bekannten Einwegsystemen aus Kunststoff deutlich an Präzision gewonnen, weil die Volumenabgrenzung nicht mit einer Zählkammer aus Kunststoff erfolgt und Zeit dadurch gespart, daß eine Konzentrierung des Harns nicht nötig ist.

— Das neue Verfahren ist bei Verwendung ausreichend präziser Mikroliterpipetten nachweisbar genauso präzise wie die herkömmliche Untersuchung mit geeichten Zählkammern aus Glas und dabei schneller und risikoloser durchzuführen als das letztgenannte Verfahren und als die bekannten Verfahren mit Einwegsystemen aus Kunststoff.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung der Konzentration mikroskopischer Teilchen in Flüssigkeiten,

- dadurch gekennzeichnet, daß die Abmessung des zu untersuchenden Volumens der Flüssigkeit mit einer Mikroliterpipette erfolgt,
- dadurch gekennzeichnet, daß die Anzahl aller Teilchen — oder aller Teilchen einer Teilchenart — bestimmt wird, die in dem nach Anspruch 1, (a) abgemessenen Volumen enthalten sind.

2. Zählkammer aus transparentem Kunststoff zum Ausführen des Verfahrens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Maßraum der Zählkammer nach Größe und Lage der auf dem Boden der Zählkammer angebrachten Netzteilung geeignet ist, das aus der Mikroliterpipette entlassene Volumen der zu untersuchenden Flüssigkeit vollständig aufzunehmen, d. h. dergestalt aufzunehmen, daß sich kein Teil der Flüssigkeit auf einem nicht mit Netzlinien bedeckten Teil des Kammerbodens befinden kann.

3. Zählkammer nach Anspruch 2,

a) die aus Kammerboden und fest montierter Deckplatte besteht und bei der das Volumen der zu untersuchenden Flüssigkeit durch Kapillarkräfte in die Kammer eingezogen wird, dadurch gekennzeichnet, daß die Netzteilung derartig auf dem Kammerboden angebracht ist, daß die Netzlinien unmittelbar an der Stelle des Kammerbodens beginnen, an der das Volumen der zu untersuchenden Flüssigkeit aufgebracht und eingezogen wird,

b) die aus Kammerboden und Deckplatte besteht, dadurch gekennzeichnet, daß die Deckplatte erst dann in der zur Auszählung geeigneten Position befestigt wird, nachdem das zu untersuchende Flüssigkeitsvolumen auf die am Kammerboden befindliche Netzteilung entlassen wurde.

4. Zählkammer nach Anspruch 3, (b),

a) dadurch gekennzeichnet, daß die an einer Seite auf der Grundplatte befestigte und mit einem Falz oder einem Scharnier versehene Deckplatte nach Aufbringen der Flüssigkeit umgeklappt wird,

b) dadurch gekennzeichnet, daß die Deckplatte vor dem Aufbringen der Flüssigkeit nicht mit der Grundplatte verbunden ist, sondern erst danach auf der Grundplatte befestigt wird.

5. Mehrfachzählkammer aus transparentem Kunststoff zum Ausführen des Verfahrens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus mehreren nebeneinander angebrachten Zählkammern nach Anspruch 2, 3 oder 4 besteht.

6. Halterung zum Ausführen des Verfahrens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in sie eine Zählkammer nach Anspruch 2, 3 oder 4 eingesetzt werden kann, und die ihrerseits in die Objektträgerhalterung eines Mikroskops eingesetzt werden kann.

7. Halterung zum Ausführen des Verfahrens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in sie eine Mehrfachzählkammer nach Anspruch 5 eingesetzt werden kann, und die ihrerseits in die Objektträgerhalterung eines Mikroskops eingesetzt werden kann.

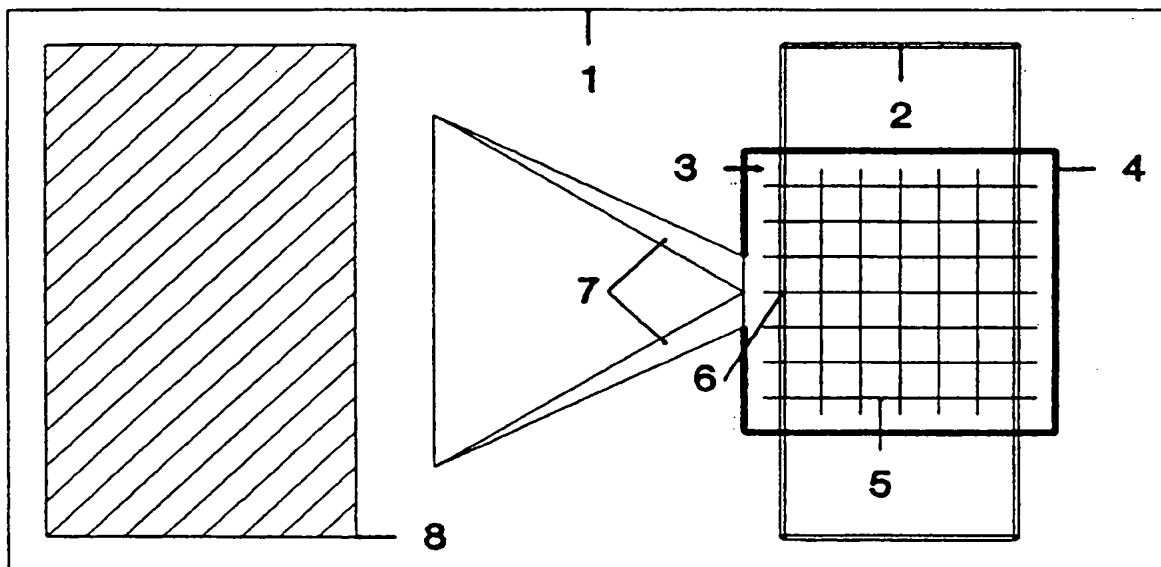
8. Mehrfachhalterung zum Ausführen des Verfahrens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in sie mehrere Zählkammern nach Anspruch 2, 3 oder 4 oder mehrere Mehrfachzählkammern nach Anspruch 5 eingesetzt werden können, und die ihrerseits in die Objektträgerhalterung eines Mikroskops eingesetzt werden kann.

9. Objektträger aus transparentem Kunststoff zum Ausführen des Verfahrens nach Anspruch 1, der direkt in die Objektträgerhalterung eines Mikroskops eingesetzt werden kann, dadurch gekennzeichnet, daß auf ihm eine oder mehrere Zählkam-

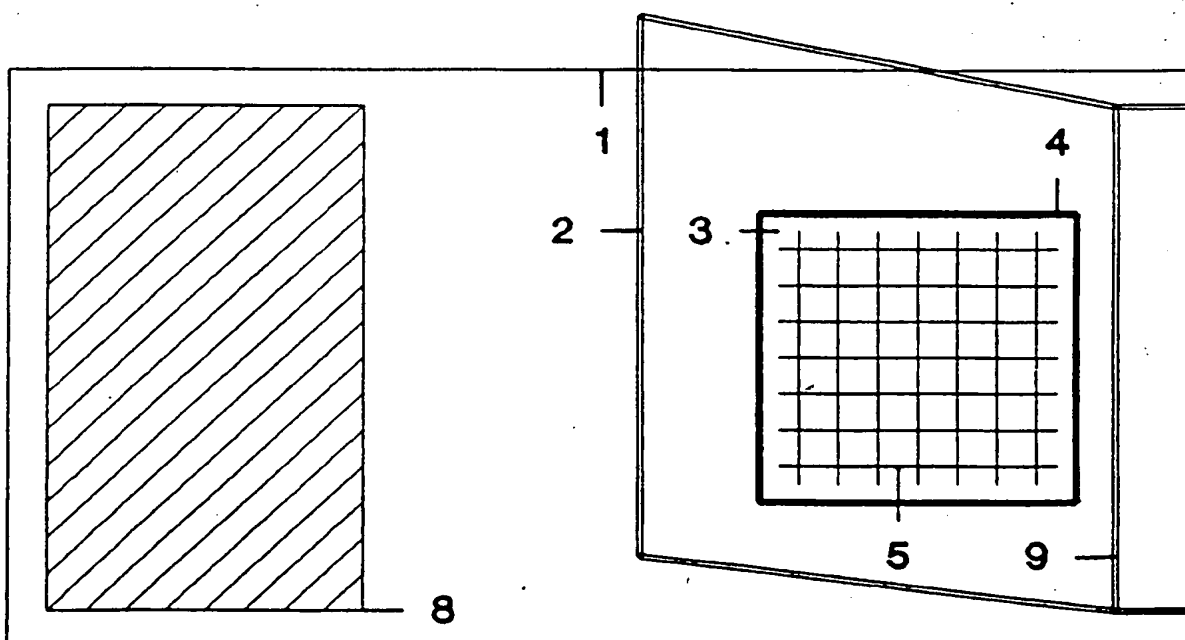
mern nach Anspruch 2, 3 oder 4 angebracht sind.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

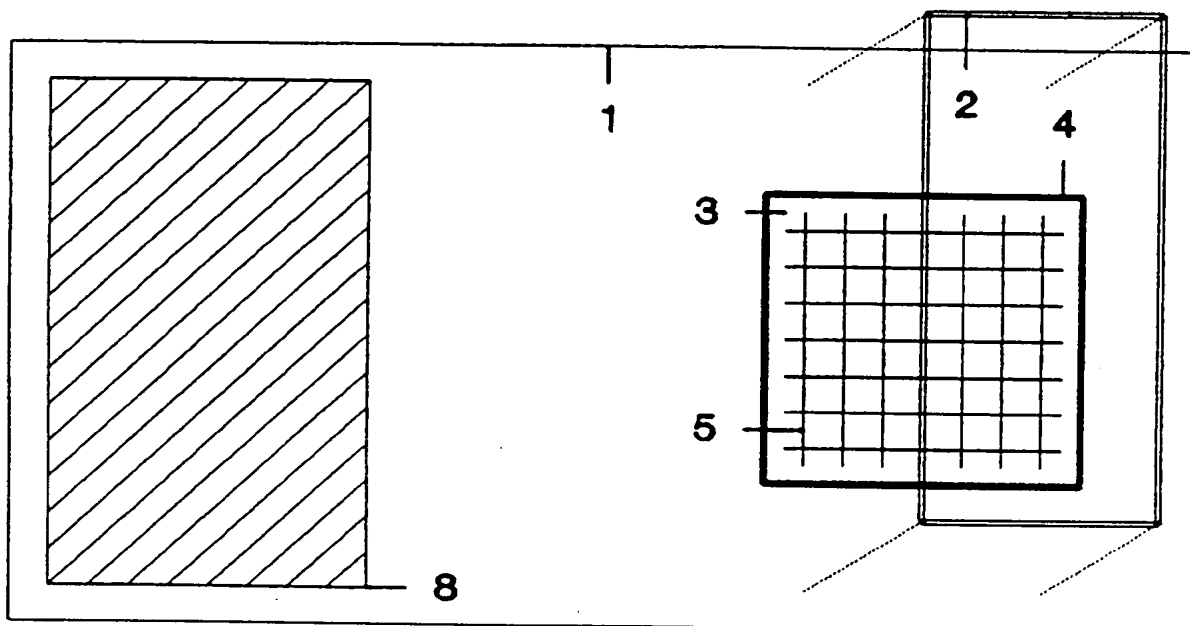
Figur Nr. 1 (Aufsicht)



Figur Nr. 2 (Aufsicht)



Figur Nr. 3 (Aufsicht)



Figur Nr. 4 (Aufsicht, Seitenansicht)

